

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 6 日現在

機関番号：84402

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24500936

研究課題名(和文)カビの勝者と敗者を分ける要因は何か？

研究課題名(英文)What factors control survival of fungi indoor environment?

研究代表者

濱田 信夫 (HAMADA, NOBUO)

大阪市立自然史博物館・学芸課・外来研究員

研究者番号：40270764

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：野外に生育していたScolecobasidium属のカビの中で、どのような形質を持った種や株が、浴室という新しい環境に侵入し、優占するようになったかについて解明を試みた。Scolecobasidium属のカビは、一般の野山と異なり、石灰岩帯で多く検出された。その中で、住環境の水回りに生えるScolecobasidiumは、耐アルカリ性、石けん利用性とともに、より高濃度の界面活性剤を利用でき、より高温条件下で生育できる特性を持つことが分かった。

研究成果の概要(英文)：Physiological characters promoting fungi grown outdoor to penetrating indoor environments were studied. Many strains of Scolecobasidium outdoor were found in limestone area and city parks accumulated with cement dust. On the other hand, Scolecobasidium indoor, able to use surfactant as nutrient, was found around water supply using detergent. Fungi growing indoor environments have some excel physiological characters. Namely, they are able to use detergent in higher content, and are more tolerant to heat than other strains outdoor.

研究分野：微生物生態学

キーワード：カビ 界面活性剤 石灰岩 室内環境 水回り

1. 研究開始当初の背景

(1) 本プロジェクトの一つである浴室のカビ汚染を研究する上で、洗濯機におけるカビ汚染の研究が役立った。石けんを使用している洗濯機と、合成洗剤を使用している洗濯機とでは、カビ相に大きな違いが見られた。*Scolecobasidium* は合成洗剤の場合に多く、*Exophiala* は石けんの場合に多かった。*Exophiala* や *Scolecobasidium* は一般に生長が遅く、野外環境中ではごく稀である。このような洗濯機のカビ相を決定している要因はカビの栄養になる洗剤、とりわけ、洗剤の成分中の AE (アルキルエーテル) などの非イオン界面活性剤が主な栄養源だと考えるに至った。

(2) 浴室に多いカビは、非イオン界面活性剤をより大量に添加した培地ほどよく育った。また、アルカリ性の培地でもよく育った。このような特性を持つカビは、日本各地の多数の浴室から分離され、また遺伝的にも一致していた。また、ヨーロッパの浴室から分離された株でも、遺伝的に日本産のものと一致した。しかし、これらの浴室の株は、野外から分離された既知のいずれの種とは異なっていた。

野外から採集された、株が NITE に登録されている *Scolecobasidium* 属の 10 株のカビについて調べてみると、2 株が非イオン界面活性剤利用能やアルカリ適性のあることが分かった。また、その 1 株が浴室に多く生育する株と近縁であり、この野外の株と浴室からの株は、形態的にもよく一致した。種名は *S. humicola* であった。この研究過程で、野外由来の株は室内由来のものとは微妙に異なり、住環境ではそこに適応した新しい種が生まれるという、本プロジェクト立案のヒントになった。

(3) 住宅の浴室などの水周りに生育する

カビは、石けんやシャンプーなどの界面活性剤を利用する能力を持っている。このような能力はカビが多くの野外の環境で生育するにはあまり意味がなかったと思われる。このような能力を持つカビが、元来野外のどのような特殊な環境で生育していたかを探した。その中で、山火事の跡の灰やアルカリ性である石灰岩帯の土壌などが有力であると予想するに至った。一方で、耐アルカリ性、石けん利用性と非イオン界面活性剤利用性との相関性が、経験上考えられた。しかし、その機作については全く想像できなかった。その原因解明も研究推進の動機になった。

(4) 非イオン界面活性剤の影響を受ける水周りであり、高温の影響を強く受けている食器洗浄機の内部の菌相について調査を行った。食器洗浄機は、浴室の 42 程度の温水を使う環境より、55 以上のより高温水を使う環境である。そのような環境では、カビは生えにくいと思われるが、40 で生育する *Exophiala dermatitidis* だけが、非常に優占していることが分かった。この種の種内変異と、野外で認められた株についてその生理・生態的な特性を知るのには興味深い。その他、*E. jeanselmei* などは耐熱性が認められ、37 でも生育することが知られている。また、この 2 種も界面活性剤を利用する能力のあることが知られている。これらのカビの中で、なぜ、*E. dermatitidis* が優占するようになったかを解析中だった。*Exophiala* 属は *Scolecobasidium* 属と生理的に類似しており、本プロジェクトの遂行に大いに役立った。

2. 研究の目的

住宅の水周りである浴室、洗面所、シンク、洗濯機には、非イオン界面活性剤を好

む暗色のカビが多く生えている。これらのカビの主な栄養源である合成洗剤やシャンプーが水回りにも出現したのはわずか 60 年前である。また、これらのカビは野外の普通種ではない。このような少数派のカビが、多くの候補との競争に打ち勝って水回りの勝者になったか、その秘訣を知りたい人は多いはずだ。

野外に生育していた *Scolecobasidium* 属のカビの中で、どのような形質を持った種や株が、界面活性剤を使う浴室という新しい環境に侵入し、さらに優占するようになったかについて解明を試みた。浴室では、*Exophiala*, *Scolecobasidium*, *Phoma*, *Phialophora* などの、室内塵や壁面、さらには野外の浮遊菌などと全く異なったユニークなカビが多く見られる。これらのカビは、石鹸成分のみならず、合成洗剤を栄養にすることができる特性がある。とりわけ *Scolecobasidium* などいくつかのカビは、0.25%の濃度の非イオン界面活性剤だけを添加した寒天培地でも生育することができる。これまでに、野外の株の中に浴室で生育するカビと栄養特性の類似したものはあるが、遺伝的に異なっていること、日本とヨーロッパの浴室のカビは遺伝子的にも生理的特性についても類似したものが見つかったことを明らかにした。

本プロジェクトでは、浴室のカビのルーツを探るため、多くの世帯の浴室から採取された種と、類似のカビの採集を試み、その生理的な特性の解明を行った。多くの石灰岩帯の土壌や、都会の公園の土壌を含め、様々な野外の環境由来の *Scolecobasidium* 属のカビについて研究を行った。さらに、各株について、耐アルカリ性、石けん利用性、非イオン界面活性剤利用性、耐熱性についての生理生態的な特性の比較を行った。そして、遺伝的、形態的な形質との関連性も調べた。

3. 研究の方法

(1) 住宅の水回りで繁殖している多くの株を収集した。採取場所として、浴室、洗濯機、台所などについて、ふき取りなどによりカビのサンプルを採取した。なお、住宅ごとの遺伝的特性の違いが見られる場合があるので、調査時に確認した。野外については、市内の神社の森、原植生の残る吉野、各地の山間部などで土壌のカビ採取を行った。その他、植物の灰がアルカリ性であることから、奈良の若草山、定期的に葦焼きが行われる大阪府高槻市の鶴殿の河原、琵琶湖沿岸の葦焼き後、さらには、2011年に大きな山火事があった瀬戸内海の井島について、その灰や灰の周辺の土壌の採取を行った。

その他、石灰岩帯では、東京奥多摩の日原周辺、岐阜県郡上八幡市の鍾乳洞帯周辺、伊吹山周辺、三重県の藤原岳、岡山県満奇洞周辺、山口県鍾乳洞周辺、沖縄県の多くの鍾乳洞などについて採取を行った。さらに、セメントの粉塵が蓄積していると思われる都市公園についても行った。大阪市立自然史博物館周辺他、北は秋田市内から、南は沖縄県まで行った。

(2) 生理的性質については、温度耐性、アルカリ耐性、石けん利用性、非イオン界面活性剤利用性を調べた。浴室のセメント部分はアルカリ性で、いくつかの *Exophiala* が pH9.2 で生育できることが指摘されている。カビは一般的に酸性域で生育するものが多く、これは注目すべき形質と考えた。また、このアルカリ耐性が石けんや非イオン界面活性剤を栄養とするという特性とどのように関連しているかについても吟味した。

(3) カビの種の同定は、単離培養後にカ

ビの生育状況を観察するとともに、顕微鏡観察を行い、形態的特徴を、文献検索を行ってこれまで確認してきた。形態学的に同定できない種類があり、その厳密な鑑別のために遺伝子検査を応用した。遺伝子レベルでは、分離株のリボソーム DNA の ITS 領域を増幅する V9D (5' - TTA AGT CCC TGC CCT TTG TA - 3') と ITS4 (5' - TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC - 3') のプライマーペアを用いて、分離株の同領域を PCR 法により増幅し、DDBJ が提供する FASTA プログラムにより、そのシーケンスの相同性を検索した。DNA の抽出、精製、PCR 反応ならびに増幅産物の精製からシーケンス反応の操作については、定法で行った。

4 . 研究成果

(1) アルカリ性の土壌の菌相の特異性には注目した。若草山の他、琵琶湖や淀川沿いで葦焼き後の灰を数度採取した。さらに、井島で大規模な山火事後の灰は、広範囲のアルカリ性土壌を生み出す。山間部では定期的に焼畑も行われてきた。また、瀬戸内海の島では、毎年のように大火事が発生する。それらの土壌とともに、原生林や、一般の川原の土壌からの *Scolecobasidium* 属のカビの分離を試みた。その他、長野県、岐阜県、京都府の山間部で同様にカビの分離を試みた。しかし、このような地域から *Scolecobasidium* 属のカビは全く検出できなかった。

(2) 浴室で多く検出される *S. humicola* が pH9.7 のアルカリ性培地でよく生育することに着目した。そこで、伊吹山、秋吉台など、いくつかの石灰岩帯の土壌から、*Scolecobasidium* 属のカビの分離を試みた。一般の森林帯の土壌とは異なって、石灰岩帯の土壌や鍾乳洞から多くの種類の *Scolecobasidium* 属のカビが検出された。

即ち、*S. constricta*, *S. excentricum*, *S. tshamytschae*, *S. verruculosum* などであった。それらの株のいくつかは、pH9.7 培地でもよく生育し、また、0.25%非イオン界面活性剤だけを添加した寒天培地でも生育した。

(3) 一方で、セメントの粉塵が蓄積している都市公園からも、*S. humicola* に遺伝的にも近縁の株が多く分離された。石灰岩帯および公園由来の株のいくつかは、pH9.7 培地でもよく生育し、高濃度の石けんの主成分あるいは界面活性剤だけを添加した寒天培地でもよく生長した。また、50 、 10 分間の温水に耐えられる株も分離された。ただ、形態的な観察を行うと、生理的な性質が類似した公園からのサンプルは、胞子の表面構造によって 2 つのグループに分けられることが分かった。ただその 2 グループ内では、生理的な性質が酷似していた。遺伝子解析の有用性について改めて確認した。

(4) それらの株と、浴室由来の *S. humicola* と生理的特性を比較した。その結果、上記の耐アルカリ性、石けん利用性、界面活性剤利用性、耐熱性のいずれの性質も *S. humicola* の多くの株が保持しているのに対して、他種の株はいずれかの特性を 1 つか 2 つ欠いていることが分かった。とりわけ、都市公園由来の株は、界面活性剤利用性などについても、*S. humicola* に類似していた。セメントとともに、住宅の近くに移入した *S. humicola* の近縁種の中で、耐熱性などに優れた株が住宅の浴室などの水回りに侵入し、定着したと思われる。様々な環境要因に対する適応能力の“引き出し”をより多く持っているかが、勝者へ道と考えるに至った。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 6 件)

浜田信夫 . スマホカバーとカビ . 環境管理技術 32, 2014, 242-246 . 有

松下 功、小畠未希、荏開津孝生、濱田信夫 . ミスト発生による浴室のカビ胞子の発芽抑制効果 . 日本防菌防黴学会誌 42, 2014, 233-238. 有

I. Bamba, M. Azuma, N. Hamada, H. Kubo and N. Isoda. Case study of airborne fungi according to air temperature and relative humidity in houses with semi-basements adjacent to forested hillside. Biocontrol Science 19, 2014, 1 - 9 . 有

井原 望, 濱田信夫, 土戸哲明 . 住宅内水回りに発生するピンク色汚染の原因微生物に対する精油の抗菌・抗真菌効果 . 日本防菌防黴学会誌 42, 2014, 63-71. 有

浜田信夫 . 食器洗い洗浄機のカビ汚染に影響する要因 . 日本防菌防黴学会誌 41, 2013, 585-593. 有

浜田信夫、阿部仁一郎 . 食器洗い洗浄機のカビ汚染の現状 . 日本防菌防黴学会誌 41, 2013, 527-534. 有

〔学会発表〕(計 2 件)

浜田信夫、スマホカバーにもカビは生える、日本防菌防黴学会第 41 回大会。2014 年 9 月 25 日、東京

浜田信夫、石灰岩帯と浴室の *Scolecobasidium* 属のカビ、日本菌学会第 58 回大会、2014 年 6 月 14 日、石川県小松市

〔図書〕(計 2 件)

濱田信夫 (分担執筆) 日本菌学会編集、朝倉書店、菌類の事典 2013, pp599-600.

浜田信夫, 朝日新聞出版, 人類とカビの歴史、2013, 246p

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等 : なし

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

濱田信夫 (HAMADA Nobuo)

大阪市立自然史博物館・学芸課・外来研究員

研究者番号 : 40270764

(2) 研究分担者

阿部仁一郎 (ABE Niichiro)

大阪市立環境科学研究所・調査研究課・研究副主幹

研究者番号 : 10321936